

# Naturalne czy syntetyczne? Fitoterapia i fitochemia jako inspiracja dla syntezy organicznej związków naturalnych

## Natural or synthetic? Phytotherapy and phytochemistry as the inspiration for organic synthesis of natural compounds

Iwona Wawer<sup>1</sup>, Katarzyna Paradowska<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Karpacka Państwowa Uczelnia w Krośnie, ul. Dmochowskiego 12, 38-400 Krosno, e-mail: iwona.wawer@kpu.krosno.pl, <sup>2</sup>Katedra Farmacji Fizycznej i Bioanalizy, Zakład Chemii Fizycznej, Wydział Farmaceutyczny, Warszawski Uniwersytet Medyczny, ul. Banacha 1, 02-097 Warszawa

---

**Słowa kluczowe:** fitochemia, bioaktywne związki, mentol, salicyna, hiperycyna, 1-DNJ  
**Key words:** phytochemistry, bioactive compounds, menthol, salicin, hypericin, 1-DNJ

---

### Streszczenie

Większość leków syntetycznych, którymi dysponuje współczesna medycyna powstała w oparciu o substancje obecne w lekach roślinnych. Naturalne źródła roślin leczniczych są na wyczerpaniu, a zmiany klimatyczne mają wpływ na uprawy ziół na plantacjach. Jednocześnie rośnie popyt na bioaktywne związki i ekstrakty z roślin. Racjonalna fitoterapia potrzebuje preparatów o zidentyfikowanym składzie, znanym farmakologicznym działaniu składników i skuteczności potwierdzonej w badaniach klinicznych. Do wykonania badań *in vivo* na zwierzętach i badań klinicznych potrzebne są w większych ilościach poszczególne składniki. Przedmiotem zainteresowania są takie związki jak mentol, składnik olejku miętowego, salicyna z kory wierzby czy 1-deoksynojirimycyna z białej morwy. Można je otrzymać przez izolację z roślin, ale konieczne jest opracowanie metod ich totalnej syntezy chemicznej. To inspirujące zadanie dla chemików i pierwszy etap w produkcji przemysłowej.

### Summary

Majority of synthetic drugs used by contemporary medicine originate from substances present in plants. However, natural sources of herbal drugs are being erratic, cultivated medicinal plants also face climate change, whereas the demand for bioactive compounds and plant extracts is on the increase. Rational phytotherapy applies preparations with well identified active components, whose pharmacological efficiency has been proved by clinical tests. To perform the studies *in vivo* using animals

and for clinical tests significant amounts of bioactive compounds are required. The compounds and plants of interest include menthol, main component of Peppermint oil, salicin from Willow bark and 1-deoxynojirimycin from *Morus alba*. These compounds can be isolated in small amounts from herbs, but the methods of their total organic synthesis should be developed. It is an inspiration for chemists and first step towards industrial production.

## Wstęp

Patrząc na bogaty wybór leków w aptekach, nie pamiętamy o tym, że większość leków syntetycznych ma mniej niż 100 lat. Najstarszy lek – aspirynę – otrzymano w 1899 roku. Inspiracją do powstania wielu leków, w tym większości przeciwnowotworowych, były składniki surowców roślinnych. Obecnie podstawą medycyny są leki syntetyczne. Wynika to z wielu powodów: chcemy się uniezależnić od pogody, bo zbiory roślin może zniszczyć susza czy gradobicie. Ale głównie dlatego, że dziko rosnących ziół nie wystarczy dla rosnącej populacji świata. Najważniejsze rośliny lecznicze są uprawiane na plantacjach, ale im też zagraża globalne ocieplenie. Surowiec farmaceutyczny z plantacji przechodzi badania jakości i jest standaryzowany, jednak zawartość substancji czynnych ulega wahaniom, bo zależy od warunków klimatycznych.

Według zasad nowoczesnej fitoterapii, leki produkowane z roślin muszą być przebadane, a badania kliniczne pokazujące ich skuteczność i bezpieczeństwo powinny być odpowiedniej jakości (randomizowane, kontrolowane placebo). Jednak badania kliniczne, które miałyby udowodnić korzyści leków roślinnych są niezwykle trudne do przeprowadzenia. Dla jednego związku można zbadać farmakokinetykę i farmakodynamikę, ale jest to niemożliwe dla złożonej mieszaniny związków, które są obecne w ekstrakcie roślinnym. W rezultacie, zamiast wzrostu liczby leków roślinnych, obserwuje się spadek oraz tendencję do zmiany statusu produktu z leku na suplement diety. Jeśli produkt ma być suplementem diety ze wskazaniami zdrowotnymi – też trzeba zebrać dowody i wykonać badania kliniczne potwierdzające efekty.

Najczęściej wykonuje się systematyczne badania dla poszczególnych związków izolowanych z materiału roślinnego, po kolei badając ich aktywność biologiczną. Związki obecne w ekstraktach roślinnych są potrzebne w większych ilościach do wykonania badań *in vitro* (na liniach komórkowych), *in vivo* (na zwierzętach), a wreszcie także do badań klinicznych. Synteza tych związków to nadzieja farmakologów i zadanie dla chemii organicznej.

Poszukiwane są związki o działaniu przeciwzapalnym, przeciwwirusowym, immunostymulującym, przeciwdziałającym procesom neurodegeneracyjnym, obniżającym poziom cukru we krwi. Obiektem zainteresowania firm farmaceutycznych jest obecnie kilkadziesiąt surowców roślinnych, a wyizolowane z nich związki są szeroko badane w laboratoriach oraz *in vivo*. Warto wymienić: miętę pieprzową (mentol, kwas rozmarynowy), korę wierzby (salicyna), ziele dziurawca (hiperycyna, hiperforyna), liście morwy białej (1-deoksynojirimycyna), ziele rumianku (matrycyna, chamazulen, bisabolol), ostropest (sylibinina i izosylibinina, sylikrystyna, sylidianina), korzeń ashwaganthu (witanolidy), zielona herbata (galusan epigalokatechiny), pelargonja afrykańska (umckalina, skopoletyna), ciemne owoce jagodowe (antocyjany, polimery katechinowe). Praca zawiera przegląd informacji na temat zastosowania i metod otrzymywania bioaktywnych związków z mięty, kory wierzby i morwy białej.

### **Mięta pieprzowa i mentol**

Miętę znali starożytni Egipcjanie 1000 lat p.n.e. Rzymianie stosowali ją do aromatyzowania napojów. Współcześnie powszechnie wiadomo, że jest to środek działający na przewód pokarmowy, ułatwiający trawienie i leczący niestrawność. Głównym składnikiem czynnym jest olejek miętowy, w surowcu jest go 0,5–4%. Dominującym związkiem w olejku jest mentol, ale są w nim też estry mentolu, menton i liczne związki terpenowe. Pokazano, że mentol przeciwdziała skurczom mięśni gładkich przewodu pokarmowego, z czego wynika działanie rozkurczowe olejku, nalewki i kropli miętowych, a także napar z liści. Olejek miętowy pobudza wydzielanie żółci, przez to ułatwia trawienie i przyswajanie pokarmów, działa też bakteriobójczo. W zaburzeniach trawienia FP poleca krople miętowe (5–15 g) lub napar z 1–3 g liści (3–6 g na dobę). W liściach mięty są flawonoidy (pochodne luteoliny, hesperydyny, eriodiktolu) i kwasy fenolowe (rozmarynowy, kawowy, chlorogenowy). Cenne związki polifenolowe z liści mięty dobrze rozpuszczają się w wodzie. Jedna torebka herbaty miętowej zaparzonej w gorącej wodzie dostarcza 182 mg polifenoli, w tym dużo kwasu rozmarynowego.

### **Mięta z pola czy z hodowli *in vitro*?**

Porównano [1] skład związków polifenolowych w ekstraktach mięty (*M. longifolia*, *M. piperita*) (Tabela 1) uprawianej na polu oraz w laboratorium.

**Tabela 1.** Całkowita zawartość związków polifenolowych (mg/g s.m.) w analizowanych ekstraktach *M. longifolia* i *M. piperita* wg [1].

**Table 1.** Concentration of total phenolic (mg/g d.w.) in analyzed extracts of *M. longifolia* i *M. piperita* according to [1].

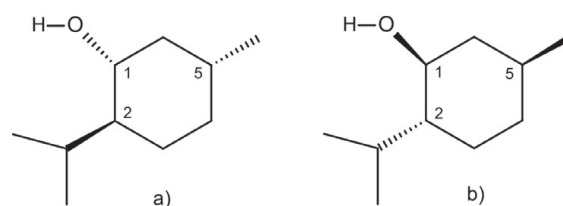
<i>M. longifolia</i>				<i>M. piperita</i>			
uprawa polowa	hodowla <i>in vitro</i>	hodowla tkankowa	hodowla na pożywkach	uprawa polowa	hodowla <i>in vitro</i>	hodowla tkankowa	hodowla na pożywkach
17,44	5,74	21,73	12,78	41,74	10,76	37,60	61,41

Wyniki pokazały, że rośliny z pola miały pełny zestaw polifenoli, podczas gdy te z hodowli tkankowej tylko niektóre. Okazało się, że w warunkach *in vitro* metabolizm związków polifenolowych bardzo się zmienia. Nie jest to zaskakujące, ponieważ związki polifenolowe są wytwarzane przez rośliny do ochrony przed promieniowaniem UV i patogenami, których nie ma w sztucznym środowisku. Wniosek: surowiec do herbatki miętowej powinien pochodzić z pola! W badaniach *in vitro*, na komórkach, pokazano, że ekstrakty z liści mięty mają dużą aktywność antyoksydacyjną, działają przeciwbakteryjnie, przeciwwirusowo i przeciwnowotworowo. Badania kliniczne z zastosowaniem olejku miętowego dotyczyły głównie leczenia zespołu jelita drażliwego [2]. Meta-analiza 9 programów terapeutycznych z udziałem 726 chorych pozwoliła na stwierdzenie, że po 2–6 tygodniach leczenia nastąpiła statystycznie istotna poprawa, a niepożądane objawy były dość łagodne (zgaga, pieczenie).

Olejek miętowy można otrzymać przez destylację z parą wodną, ale z bardzo dobrą wydajnością i selektywnie można otrzymać jego składniki: mentol, menton i izo-menton, stosując ekstrakcję dwutlenkiem węgla w stanie nadkrytycznym [3, 4].

## Mentol

To alkohol z grupy terpenów o ostrym zapachu, izolowany z mięty pieprzowej i innych mięt. Tworzy białe, igłowe kryształy, jest słabo rozpuszczalny w wodzie, ale dobrze rozpuszcza się w polarnych rozpuszczalnikach. W cząsteczce mentolu są 3 centra chiralne (węgle C1, 2 i 5), 8 izomerów optycznych, z których 4 występują w naturze, a 4 zostały otrzymane na drodze syntetycznej (tzw. *neomentole*). Naturalny (–)-mentol o konfiguracji 1*R*,2*S*,5*R* ma najsilniejsze działanie biologiczne (Rysunek 1).



**Rysunek 1.** Wzory dwóch enancjomerów mentolu: a) (1R,2S,5R)-(-)-mentol, b) (1S,2R,5S)-(+)-mentol.

**Figure 1.** Chemical formulas of two enantiomers of menthol: a) (1R,2S,5R)-(-)-menthol, b) (1S,2R,5S) -(+)-menthol.

Naturalny krystaliczny mentol można otrzymać przez wymrażanie olejku miętowego, osad oddziela się przez filtrację. Produkcja naturalnego mentolu, otrzymywanego głównie z *Mentha arvensis* to tylko ok. 13 ton/rok, podczas gdy produkcję syntetycznego mentolu oszacowano na ponad 20 000 ton.

Mentol to mała cząsteczka, ale proces jej otrzymywania nie jest łatwy ze względu na chiralność. Jej asymetryczna synteza to osiągnięcie Ryoji Noyori, za które jego zespół otrzymał w 2001 roku Nagrodę Nobla z chemii. Syntezę terpenów, w tym (-)-mentolu, opracowała firma BASF. Związkiem wyjściowym w syntezie jest buten. Według opatentowanego w USA procesu Symrise, najpierw z m-krezolu otrzymuje się tymol, jego uwodornienie daje mieszaninę mentoli, z których trzeba wydzielić mieszaninę racemiczną, a następnie jeden czysty epimer z wydajnością ok. 90%. Czysty enancjomer (-)-mentolu (94%) w ilości 3 000 ton/rok produkuje japońska Takasago International Corporation. W procesie Takasago zachodzi katalizowana izomeryzacja, związkiem wyjściowym jest myrcen, następnie otrzymuje się cytronelal, a przez redukcję czystego enancjomeru tego aldehydu powstaje (-)-mentol.

Liderami w syntezie przemysłowej mentolu są Chiny, Indie i Japonia. Produkcja syntetycznego mentolu na świecie rośnie w odpowiedzi na duże zapotrzebowanie, a ceny są w granicach 10–20 \$/kg. Mentol krystaliczny, do celów spożywczych lub kosmetycznych, można w Polsce kupić w cenie 40–50 zł za 100 g.

Syntetyczny mentol jest stosowany w przemyśle kosmetycznym i farmaceutycznym jako środek zapachowy do produkcji kosmetyków, pasty do zębów, szamponów, ale też płynów do mycia naczyń itp. Jest oczywiste, że do płynu do mycia naczyń nie jest potrzebny naturalny olejek ekstrahowany z mięty, doskonale sprawdzi się produkt syntetyczny. Mentol uważany jest za bezpieczny składnik produktów spożywczych, jeśli dzienne spożycie [5] nie przekracza 0,2 mg/kg masy ciała. Odnotowano przypadki ostrych zatruc,



które były związane ze spożywaniem dużych ilości olejku miętowego. Olejek podawany doustnie był toksyczny, gdy zawierał dużo mentonu i pulegonu, ale nie był mutageny. Objawy zatrucia to zapalenie skóry, ból brzucha, nudności, wymioty, bradykardia [6]. Nie obserwowano toksyczności, gdy szczurom podawano 800 mg/kg mentolu przez 28 dni [7]. Śmiertelna dawka dla człowieka (przeliczona z badań na szczurach i myszach) szacowana jest na 50–150 mg/kg.

Mimo szerokiego stosowania mentolu syntetycznego, niskiej ceny i dostępności, jego mechanizmy działania nie są dobrze poznane, a wyjaśnianie ich na poziomie molekularnym zaczęło następować dopiero w ostatnich latach [8]. Okazało się, że charakterystyczny efekt chłodu po zastosowaniu mentolu na skórę wynika z aktywacji sensorycznych neuronów. (-)-mentol działa na receptory TRPM8 i TRPA1, powoduje przepływ wapnia przez kanały jonowe, co indukuje sygnał chłodu. Właściwości przeciwbólowe są związane z jego działaniem na receptory  $\kappa$ -opiodowe. Dyskusyjna jest obecność mentolu w papierosach, gdyż metabolizm mentolu podawanego drogą oddechową nie jest dobrze poznany. Dodatkowo, lepszy smak papierosów mentolowych utrudnia rezygnację z nałogu.

### **Kora wierzbowy: aspiryna i salicyna**

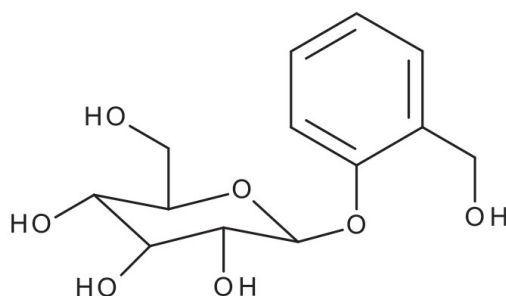
Egipcjanie i Asyryjczycy do łagodzenia bólów reumatycznych używali kory wierzby, również w średniowiecznej Europie był to znany środek przeciwgorączkowy i przeciwbólowy. W XIX wieku włoscy aptekarze opracowali proces ekstrakcji salicylanów. W 1899 roku pracownicy firmy Bayer otrzymali syntetycznie kwas acetylosalicylowy, nazywając ten związek „aspiryną”. Jest to jeden z najstarszych, ale i najlepszych leków. O korze wierzbowej zapomniano, ale ten stary surowiec jest obecnie ponownie odkrywany, a zainteresowanie naukowców budzą salicyna i jej pochodne.

Kora jest pozyskiwana z młodych 2–3-letnich gałązek *S. alba* L., *S. purpurea* L., *S. fragilis* L., lub innych gatunków *Salix*; powinna zawierać co najmniej 1,5% pochodnych salicyny. Badania różnych surowców pokazały bardzo duże różnice w zawartości salicylanów, od 0,04% do 12,06%, dlatego ważna jest standaryzacja surowca. Kora wierzby znajduje się w spisie tradycyjnych leków roślinnych [9]. EMEA (European Medicines Agency) przygotowała monografię [10], rekomendując dawkę 1–3 g kory dziennie. Ekstrakt z kory może zawierać różne ilości salicyny. Zalecane dawki suchego ekstraktu to 600 mg dwa razy dziennie, w tym 240 mg salicyny. Farmakopea EU 6.1. określa ilość salicyny w jednej dawce jako

120–240 mg. Ekstrakty mogą być zastosowane w leczeniu gorączki, bólów i łagodnych dolegliwości reumatycznych.

## Salicyna

Salicyna to glikozyd (2- $\beta$ -D-glukopiranozyd saligeniny) (Rysunek 2). Wyodrębniona w 1830 r. z kory wierzby *Salix purpurea*, jest jednym z głównych bioaktywnych składników. Jest to bezbarwna, krystaliczna substancja, rozpuszczalna w wodzie, łatwo przyswajalna. W organizmie ulega hydrolizie do glukozy i saligeniny (alkohol salicylowy), która utlenia się do kwasu salicylowego. Kwas salicylowy działa przeciwgorączkowo i przeciwzapalnie. Oprócz glikozydowych pochodnych salicylowych (salicyna, salikortyna, popelina, fragilina, tremulacyna), w korze są też taniny, aldehydy i kwasy (salidrozyd, wanilina, syryngina, kwas salicylowy, kawowy, ferulowy) i flawonoidy.



**Rysunek 2.** Wzór chemiczny 2- $\beta$ -D-glukopiranozyd saligeniny.  
**Figure 2.** Chemical formula of saligenin 2- $\beta$ -D-glucopyranoside.

Stosować 100 g kory czy 1 tabletkę z ekstraktem? Kora wierzbowe, bogata w salicylany i taniny, ma gorzki smak i napar jest niesmaczny. Typowa dawka aspiryny, czyli 500 mg to ekwiwalent 794 mg salicyny. Nawet jeśli ekstrakcja gorącą wodą byłaby skuteczna w 100%, trzeba by użyć aż 80–150 g kory, aby zastąpić jedną tabletkę leku. Zwyczajowo, do przygotowania naparu z kory wierzbowej używa się tylko 1–3 g sproszkowanej kory. Z obliczeń wynika, że roślinny preparat dostarcza mało salicylanów. Zdaniem polskich naukowców [11], ekstrakt z kory wierzbowej *Salix purpurea* jest źródłem związków

o działaniu przeciwzapalnym, o mniejszych efektach ubocznych niż aspiryna, który można używać w terapii schorzeń reumatycznych, zwłaszcza u osób starszych. Bardzo interesujące byłoby wyjaśnienie jak działa zespół związków obecnych w ekstrakcie, takich jak salicylany i flawonoidy.

W medycznych bazach danych są publikacje [12] dotyczące zastosowania ekstraktu z kory wierzby w leczeniu bólów szkieletowo-mięśniowych. Pacjentom podawano 240 mg salicyny dziennie przez 6 tygodni, a efekt przeciwbólowy był zależny od dawki. Nie było wyraźnych pozytywnych efektów w przypadku reumatoidalnego zapalenia stawów. Jeśli w leczeniu dolegliwości bólowych i reumatycznych stosuje się ekstrakty z kory wierzbowej, to ich skuteczność zwykle przypisywana jest salicynie i pochodnym. Jednak doświadczenia kliniczne i badania farmakologiczne sugerują, że obecność salicylanów nie jest wystarczającym wyjaśnieniem [13]. Ekstrakt z kory to lek wieloskładnikowy i wielocelowy, ma szerszy profil działania niż aspiryna [14] i nie ma jej skutków ubocznych (działanie na błonę śluzową żołądka, wpływ na krzepnięcie krwi). Z badań *in vitro* wynikało [15], że ekstrakt słabo hamuje uwalnianie prozapalnych cytokin i innych markerów, nie hamuje aktywności enzymów COX-1 i COX-2. Wydaje się, że aktywność przeciwzapalna ekstraktu z kory wierzby nie jest tylko związana salicyną, bardzo istotna jest obecność polifenoli i flawonoidów [16]. Potrzebne są badania na zwierzętach i badania kliniczne potwierdzające aktywność czystej salicyny.

Ale czy naprawdę potrzebujemy kory jako źródła salicyny? Mimo, że wierzba rośnie dość szybko, to dostęp do surowca jest limitowany. Może warto wyprodukować syntetyczną salicynę?

### **Synteza salicylanów**

Cena salicyny (D-(-)-salicyny) izolowanej z surowca roślinnego wynosi 3700 zł/100 g. Pozwala to sfinansować koszty materiału w badaniach *in vitro*. Aby wykonać badania *in vivo*, zwłaszcza kliniczne i ewentualnie zarejestrować ją jako lek, potrzebny jest tani związek syntetyczny. Salicyna to glikozyd fenolowy, w którym aglikon – fenol połączony jest z cukrem – glukozą. Synteza glikozydu zaczyna się od syntezy aglikonu, ale najtrudniejsze jest stworzenie wiązania glikozydowego, do czego potrzebne jest selektywne usuwanie grup zabezpieczających w cząsteczkach aglikonu i w cukru. Pierwszą totalną syntezę chemiczną naturalnych pochodnych glikozydów fenolowych opisano w 2012 roku [17]. Wykonano syntezę naturalnych fenyloglikozydów: salirepozydu, populozydów A, B, C i innych oraz ich acetylowych, octanowych i benzylowych pochodnych, startując z prostych fenoli i glukozy. Kluczowym

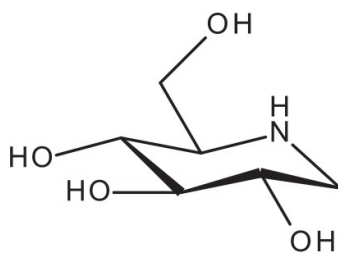


etapem okazało się selektywne usuwanie grup acetylowych. Dalsze prace tego zespołu [18] doprowadziły do syntezy populozydu i 9 pochodnych acetylowanych, niewystępujących w roślinach. Można mieć nadzieję, że wkrótce otrzymamy następne leki i będą to fenyloglikozydy, takie jak salicyna i jej pochodne.

### Morwa i 1-deoksynojirimycyna

Morwa biała (*Morus alba* L.) pochodzi z Chin i południowo-wschodniej Azji. Morwa jest drzewem liściastym, dorasta do 15 m, ma słodkie owoce o zabarwieniu białym, różowym, fioletowym bądź czarnym. Jej liście to pożywienie dla gąsienic jedwabnika. Już w antycznych Chinach dostrzeżono lecznicze właściwości morwy białej, stosowano ją w leczeniu chorób górnych dróg oddechowych i oczu. W tradycyjnej medycynie liście morwy wykorzystywano jako środek obniżający poziom cukru we krwi. Do chwili obecnej opisano ponad 150 gatunków morwy, ale zaledwie 10–16 gatunków jest szeroko rozpoznawanych przez botaników. Według współczesnej fitoterapii, związki obecne w liściach morwy, jak 1-deoksynojirimycyna (1,5-dideoksy-1,5-imino-D-sorbitol; 1-DNJ) i pochodne wykazują działanie podobne do leków przeciwcukrzycowych. Te alkaloidy (iminocukry) hamują aktywność enzymów glikozydaz i innych odpowiedzialnych za rozkład cukrów złożonych (skrobi, sacharozy) do cukrów prostych. W wyniku ich działania część węglowodanów pozostaje niestrawiona, absorpcja glukozy jest ograniczona, co powoduje obniżenie jej poziomu we krwi.

Interesujące są doniesienia z badań na myszach, że DNJ i pochodne korzystnie działają w chorobach neurodegeneracyjnych, takich jak choroba Alzheimera i Parkinsona [19], hamują procesy zapalne i osadzanie się płytek  $\beta$ -amyloidu. Warto zauważyć, że oprócz DNJ (Rysunek 3) i alkaloidów, w liściach morwy jest wiele innych związków, jak flawonoidy, kumaryny, steroidy, które mogą wykazywać podobną aktywność.



**Rysunek 3.** Wzór chemiczny 1-deoksynojirimycyny (1-DNJ).  
**Figure 3.** Chemical formula of 1-deoxynojirimycin (1-DNJ).

1-DNJ to iminocukier występujący w *Morus alba*, *Commelina communis*, a także produkowany przez szczepy bakterii *Bacillus* i *Streptomyces*. Spośród 18 zidentyfikowanych w liściach morwy białej polihydroksyalkaloidów, najwięcej jest 1-deoksynojirimycyny (1-DNJ): od 0,28 do 3,88 mg/g. W badaniach naukowych używa się naparów, suchego ekstraktu z liści lub 1-DNJ izolowanego z naturalnych surowców.

Do wspomaganie diety i kontroli poziomu cukru najczęściej stosuje się napary z liści morwy. Przeprowadzono badania nad otrzymaniem naparu z liści o wysokiej zawartości DNJ [20]. Popularne herbatki z liści morwy nie dostarczają efektywnej dawki DNJ, bowiem jest tego związku mało w surowcu. Zawartość DNJ zależy od odmiany morwy: od 30 do 170 mg/100 g suchych liści, ale również od etapu rozwoju liści – rośnie ona w szeregu: dojrzałe liście < młode liście < pączki liściowe. W tym samym szeregu rośnie zdolność hamowania  $\alpha$ -glukozydazy, co potwierdza, że za ten efekt odpowiada DNJ. Ważny jest proces ekstrakcji, ok. 95% całkowitej ilości DNJ w suchych, młodych liściach przechodzi do roztworu w temperaturze 98°C w ciągu 400 s. Takie warunki są rekomendowane do zaparzania suchych liści o wysokiej zawartości DNJ. Jedna filiżanka napoju, czyli 230 ml, powinna dostarczyć 6,5 mg DNJ, aby efektywnie obniżyć poziom glukozy po posiłku. Zawartość 1-DNJ w liściach morwy wzrasta po poddaniu ich fermentacji z udziałem mikroorganizmów pochodzących z tradycyjnej koreańskiej żywności [21].

Efektywna dawka DNJ powodująca obniżenie poziomu glukozy została określona na zwierzętach. Jest niewiele danych na temat długoterminowego podawania suplementów diety z ekstraktem z liści morwy, zwłaszcza pacjentom z wczesnym stadium cukrzycy. Pokazano, że spożycie ekstraktu z liści zawierającego 12 mg DNJ obniża hiperglikemię, po podaniu porcji sacharozy zdrowym osobom [22]. Ze względu na dużą zawartość DNJ i flawonoidów, które obniżają poziom glukozy we krwi, morwa biała może być skutecznym środkiem wspomagającym dietę w cukrzycy typu II. Wobec rosnącej liczby osób chorych na cukrzycę, powstało duże zapotrzebowanie na liście morwy oraz na czysty bioaktywny składnik 1-deoksynojirimycynę.

### **1-Deoksynojirimycyna**

Jest to związek o dość wysokiej cenie, bo jego synteza jest trudna. Jako substancja wzorcowa kosztuje: 1610 zł/10 mg, 50 mg (DNJ, Duvoglustat) 350 Euro. 1-DNJ sprzedawana jest jako chlorowodorek lub pochodna metylowa.

W informacji handlowej można przeczytać, że jest to specyficzny inhibitor glukozydazy I i II – enzymów, które kolejno usuwają trzy jednostki glukozy z  $\text{Glc}_3\text{Man}_9\text{-GlcNAc}_2$  w biosyntezie glikanów.

Macierzystym związkiem wyjściowym do syntezy inhibitorów glukozydazy i antybiotyków jest iminocukier – nojirimycyna. Jej strukturę i metodę syntezy opisano w 1968 roku [23]. Nojirimycynę produkują też bakterie *Streptomyces*. Redukcja tego związku prowadzi do otrzymania 1-DNJ drogą syntezy chemicznej. W 1998 roku zaproponowano [24] metodę syntezy asymetrycznej (+)-1-deoksynojoirimycyny w 14 etapach, startując z dienu. W całym ciągu reakcji najważniejsze etapy to dihydroksylacja, epoksydacja, a następnie regio- i stereoselektywna aminoliza winylowego epoksydu prowadząca do pochodnych piperydyny, a dalej do -deoksynojoirimycyny. W 2010 roku opracowano syntezę enancjomerów 1-deoksynojoirimycyny drogą chemo- i diastereoselektywnego utleniania nienasyconych amin [25]. Związkiem wyjściowym był czysty enancjomer: (R)-N(1)-1'-(1''-naftylo)etylo-2,7-dihydro-1H-azepina; po utlenieniu otrzymuje się epoksyazepan, następnie epoksy piperydynę, a po regioselektywnym otwarciu pierścienia epoksydowego i usunięciu grup zabezpieczających powstają enancjomery: 1-deoksynojoirimycyna i 1-deoxyaltronojoirimycyna. W 2016 roku opisano 3-etapową syntezę DNJ i pochodnych, startując z łatwo dostępnego związku 2,3,4,6-tetra-O-benzyl-D-glukopiranozy [26], reakcje aminacji oraz usuwania grup benzytowych prowadzono z udziałem katalizatorów (Ir, Pd) w łagodnych warunkach. Rosnący popyt na DNJ powoduje, że interesująca staje się biotechnologia, możliwość wykorzystania jej produkcji przez bakterie, np. *Bacillus* [27].

Do zespołu bioaktywnych alkaloidów z *Morus alba* należy 1-DNJ, fagomina i 1,4-dideoksy-1,4-imino-D-arabinitol (DAB), razem dając ponad 80% wszystkich alkaloidów. Mają one skuteczne działanie hypoglikemiczne i mało efektów ubocznych, co pokazano w badaniach klinicznych II/III fazy. Zbadano ich aktywność hamującą różne enzymy  $\alpha$ -glukozydazy ( $\alpha$ -amylazy i disacharydazy) [28]. Okazało się, że alkaloidy te dość selektywnie hamują aktywność disacharydazy. Działanie 1-DNJ potwierdzono drogą modelowania komputerowego, dokując 1-DNJ do enzymu, ale wyniki *in silico* wymagają sprawdzenia eksperymentalnego. Dla 1-DNJ i pochodnych alkaloidów potrzebne są dalsze badania farmakokinetyki i metabolizmu, zanim 1-DNJ zostanie zaakceptowany jako składnik żywności. Dotychczasowe wyniki badań sugerują, że 1-DNJ to obiecujący kandydat na substancję leczniczą.

Liście morwy to też źródło polifenoli, głównie flawonoidów. Zidentyfikowano: kwercetynę, rutynę, kemferol, astragalinę oraz kwasy fenolowe, w tym kwas chlorogenowy. Całkowita zawartość polifenoli: od 12,81 do 15,50 mg

GAE (ekwiwalent kwasu galusowego) w 1 g suchej masy. W liściach morwy znaleziono też kwas L-askorbinowy, beta-karoteny, szczawiany, fityniany oraz kwas taninowy. Liście morwy są interesującym surowcem dla przemysłu farmaceutycznego i spożywczego, do produkcji preparatów wspomagających dietę osób o zwiększonym ryzyku cukrzycy. Obecnie na rynku są herbaty z liści morwy, tabletki na bazie wyciągów i ekstraktów z liści oraz soki z owoców. Większość preparatów ma status suplementów diety.

### Podsumowanie

Nowoczesna fitoterapia potrzebuje preparatów o zidentyfikowanym składzie, znanym farmakologicznym działaniu składników i skuteczności potwierdzonej w badaniach klinicznych. Tradycyjna medycyna i zielarstwo klasztorne stanowią jedynie inspirację dla badań naukowych. Jednakże do wykonania badań *in vivo* na zwierzętach czy przeprowadzenia badań klinicznych potrzebne są większe ilości poszczególnych składników aktywnych, tj. 1-deoksynojirimycyna czy salicyna. Do badań fotochemicznych można je otrzymać przez izolację z roślin, ale do uzyskania odpowiedniej ilości z przeznaczeniem na badania *in vivo*, niezbędne jest opracowanie metod ich totalnej syntezy chemicznej. Opracowanie totalnej syntezy to inspirujące zadanie dla chemików i pierwszy etap w produkcji przemysłowej.

### Literatura

- [1] Krzyżanowska J., Janda B., Pecio Ł., Stochmal A., Determination of polyphenols in *Mentha longifolia* and *M. piperita* field-grown and in vitro plant samples using UPLC-TQ-MS, *Journal of AOAC International*, 2011, 94(1), s. 43–50.
- [2] Khanna R., Khanna R., MacDonald J.K., Levesque B.G., Peppermint oil for the treatment of irritable bowel syndrome: a systematic review and meta-analysis, *Journal of Clinical Gastroenterology*, 2014, 48(6), s. 505–512.
- [3] Goto, M., Sato M., Hirose T., Extraction of peppermint oil by supercritical carbon dioxide, *Journal of Chemical Engineering of Japan*, 1993, 26, s. 401–407.
- [4] Roy, B.C., Goto M., Kodama A., Hirose T., Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of essential oils and cuticular waxes from peppermint leaves, *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 1996, 67, s. 21–26.
- [5] Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, Evaluation of certain food additives: twentieth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, Geneva 2009.
- [6] Jerrold B. i wsp., Peppermint Oil, *Poisoning and Toxicology Handbook* (4th ed.), Informa, 2008, s. 885.
- [7] Thorup I., Würtzen G., Carstensen J., Olsen P., Short term toxicity study in rats dosed with pulegone and menthol, *Toxicology Letters*, 1983, 19(3), s. 207–210.
- [8] Farco J.A., Grundmann O., Menthol-pharmacology of an important naturally medicinal „cool”. Mini-reviews in *Medicinal Chemistry*, 2013, 13(1), s.124–131.



- [9] Community Herbal Monograph on Salix, cortex (EMA/HMPC/295338/2007)
- [10] EMA 2009, „Community herbal monograph on Salix, cortex”, (EMA/HMPC/295338/2007); <http://www.ema.europa.eu>
- [11] Krauze-Baranowska M., Szutowicz E., Wierzba – źródło surowców leczniczych o działaniu przeciwzapalnym i przeciwbólowym, *Postępy Fototerapii*, 2004, 12, s. 77–86.
- [12] Vlachoianis J.E., Cameron M., Chrubasik S., A systematic review on the effectiveness of willow bark for musculoskeletal pain, *Phytotherapy Research*, 2009, 23(7), s. 897–900.
- [13] Shara M., Stohs S.J., Efficacy and safety of white willow bark (*Salix alba*) extracts, *Phytotherapy Research*, 2015, 29(8), s. 1112–1116.
- [14] Vlachoianis J., Magora F., Chrubasik S., Willow species and aspirin: different mechanism of actions. *Phytotherapy Research*, 2011, 25(7), s. 1102–1104.
- [15] Fiebich B., Chrubasik S., Effects of an ethanolic *Salix* extract on the release of selected inflammatory mediators in vitro, *Phytomedicine*, 2004, 11, s. 135–138.
- [16] Nahrsted A., Schmidt M., Jaeddi R., Metz J., Willow bark extract: the contribution of polyphenols to the overall effect, *Wiener Medizinische Wochenschrift*, 2007, 157(13–14), s. 348–351.
- [17] Belyanin M.L., Stepanova E.V., Ogrodnikov V.D., First total chemical synthesis of natural acyl derivatives of some phenolglycosides of the family Salicaceae, *Carbohydrates Research*, 2012, 363, s. 66–72.
- [18] Stepanova E.V., Belyanin M.L., Filimonov V.D., Synthesis of acyl derivatives of salicin, salirepin, and arbutin, *Carbohydrates Research*, 2014, 388, s. 105–111.
- [19] Chen W., Liang T., Zuo W., Wu X., Shen Z., Wang F., Li C., Zheng Y., Peng G., Neuroprotective effect of 1-Deoxynojirimycin on cognitive impairment  $\beta$ -amyloid deposition and neuroinflammation in the SAMP8 mice, *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2018, 106, s. 92–97.
- [20] Vichasilp C., Nakagawa K., Sookwong P., Higuchi O., Luemunkong S., Miyaza T., Development of high 1-deoxynojirimycin (DNJ) content mulberry tea and use of response surface methodology to optimize tea-making conditions for highest DNJ extraction, *LWT- Food Science and Technology*, 2012, 45, s. 226–232.
- [21] Jeong J.H., Lee N.K., Cho S.H., Jeong D.J., Jeong Y.S., Enhancement of 1-deoxynojirimycin content and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity in mulberry leaf using various fermenting microorganisms isolated from Korean traditional fermented food, *Biotechnology and Bioengineering*, 2014, 19, s. 1114–1118.
- [22] Kimura T., Nakagawa K., Kubota H., Kojima Y., Food-grade mulberry powder enriched with 1-deoxynojirimycin suppresses the elevation of postprandial blood glucose in humans, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2007, 55, s. 5869–5874.
- [23] Inouye S., Tsuruoka T., Ito T., Niida T., Structure and synthesis of nojirimycin, *Tetrahedron*, 1968, 24, s. 2125–2144.
- [24] Lindström U.M., Somfai P., Asymmetric synthesis of (+)-1-deoxynojirimycin, *Tetrahedron Letters*, 1998, 39(39), s. 7173–7176.
- [25] Bagal S.K., Davies S.G., Lee J.A., Roberts P.M., Scott P.M., Thomson J.E., Syntheses of the enantiomers of 1-deoxynojirimycin and 1-deoxyaltronojirimycin via chemo- and diastereoselective olefinic oxidation of unsaturated amines, *The Journal of Organic Chemistry*, 2010, 75(23), s. 8133–8146.
- [26] Zhao K., Zhou G., Nie H., Chen W., Three-step synthesis of 1-ido-1-deoxynojirimycin derivatives by reductive amination in water, „borrowing hydrogen” under neat conditions and deprotection, *Organic & Biomolecular Chemistry*, 2016, 14(40), s. 9466–9471.
- [27] Onose S., Ikeda R., Nakagawa K., Kimura T., Yamagishi K., Higuchi O., Miyazawa T., Production of the  $\alpha$ -glucosidase inhibitor 1-deoxynojirimycin from *Bacillus* species, *Food Chemistry*, 2013, 138, s. 516–523.
- [28] Liu Z., Yang Y., Dong W., Liu Q., Wang R., Pang J., Xia X., Zhu X., Liu S., Shen Z., Shen Z., Xiao Z., Liu Y., Investigation on the enzymatic profile of Mulberry alkaloids by enzymatic study and molecular docking, *Molecules*, 2019, 24(9), s. 1776–1791.

Do cytowania:

Wawer I., Paradowska K., Naturalne czy syntetyczne? Fitoterapia i fitochemia jako inspiracja dla syntezy organicznej związków naturalnych, *Herbalism*, 2020, 1 (6), s. 7–19.